Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Dr. h. c. H. E. Bock

Immunologische Untersuchung der Bindung von ^{131}J-1-Trijodthyronin und ^{131}J-1-Thyroxin an Serumproteine von Euthyreoten, Hyperthyreoten und Myxödempatienten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ute-Gabi Weiss, geb. Lang
aus Ulm

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547609_0021

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Dr. h. c. H. E. Bock

Immunologische Untersuchung der Bindung von ^{131}J-1-Trijodthyronin und ^{131}J-1-Thyroxin an Serumproteine von Euthyreoten, Hyperthyreoten und Myxödempatienten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ute-Gabi Weiss, geb. Lang
aus Ulm

1970

Dekan: Professor Dr. J. Hirschmann

1. Berichterstatter: Professor Dr. E. Kallee

2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. h. c. H. E. Bock

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG • Tübingen

INHALT

Seite

(A) Einleitung 1

(B) Methodik 3
I. Herstellung der Antikörperlösung 3
II. Versuche mit ^{131}J-TJT und ^{131}J-Tx .. 5
1. Vorversuche 6
2. Hauptversuch 6
III. Eiweißbestimmung der Präzipitate ... 7

(C) Ergebnisse 8

(D) Diskussion 35

(E) Zusammenfassung 37

(F) Literatur 38

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

(A) Einleitung

Die Bindung von Schilddrüsenhormonen an Serumproteine in vitro ist abhängig von Art, pH und Konzentration des Puffers (Übersicht bei HAMOLSKY et al. 196o, TATA 196o, OSORIO et.al. 1963). Unphysiologische Puffer können die Lokalisation der Adsorption von Thyroxin (Tx) und Trijodthyronin (TJT) an verschiedene Serumproteine sowie deren Tx- und TJT-Bindungskapazität verfälschen, so daß OSORIO 1963 zu dem Ergebnis kam, TJT sei bei pH 7,4 überhaupt nicht an Humanalbumin gebunden. Diese Arbeitshypothese war bisher nicht zu widerlegen gewesen,da für alle Bindungsstudien Puffer erforderlich waren, die teils Tx und TJT kompetitiv verdrängten,teils zu pH-Werten führten, die stark von 7,4 abwichen. Nach STERLING sollen physiologischerweise nur o,o5% des Thyroxins im Serum nicht an Serumproteine gebunden, sondern frei sein.Zu diesem Ergebnis kamen die Autoren auf Grund von Dialyseexperimenten mit Zellulosemembranen, bei denen als Außenflüssigkeit proteinfreie Puffer dienten. STERLING leitete daraus die Hypothese ab, daß die physiologische Thyroxinwirkung auf einer Diffusion des freien Hormons durch die Zellmembran beruhe.
Im Gegensatz dazu fand KALLEE (1961, 1966) in Tx-Verteilungsgleichgewichten zwischen Rattenserum und Rattenmitochondrien, also ohne Zwischenschaltung künstlicher Membranen,daß Rattenserum bei vergleichbaren Proteinkonzentrationen etwa 3o-5o% des in physiologischen Konzentrationen zugefügten Thyroxins an die Mitochondrien abgeben kann. Je nach Verhältnis der

Proteinkonzentrationen im Mitochondriensediment und im Rattenserum ließen sich für das disponible Tx Werte zwischen 1,7% und 86,4% ermitteln. Es war daher von Interesse, einige Anhaltspunkte über die Größenordnung des freien Serumthyroxins in einem primär monophasischen System zu gewinnen, d.h. ohne trennende Membran und ohne Zufügen von festen Adsorbentien. Hierfür kam nur eine schonende Präzipitationstechnik in Frage. Deshalb wurde in vorliegender Arbeit eine neue Immunpräzipitationstechnik angewandt (KALLEE et al.1963).

(B) Methodik

I. Herstellung der Antikörperlösungen

Kaninchen wurden mit steigenden Mengen Humanalbumin ('reinst', Behringwerke Nr.2433) oder Humanmischserum hyperimmunisiert (KABAT und MAYER 1963). Die Tiere erhielten jeden zweiten Tag eine Antigeninjektion; die Antigene waren teilweise an $Al(OH)_3$ adsorbiert. Vier bis fünf Wochen nach der ersten Antigeninjektion wurden die mit Pernocton(R) narkotisierten Tiere aus der A.femoralis entblutet. Die Isolierung der Gamma-Globuline erfolgte durch fraktionierte, absteigende Fällung mit Ammoniumsulfat und anschliessende Reinigung mit Rivanol(R) (Farbwerke Höchst) nach folgendem Schema (KALLEE et al. 1963):

1. 14o ml Kaninchenserum wurden mit 14o ml gesättigter Ammoniumsulfatlösung (= AS) versetzt (≙5o%-Sättigung), auf pH 7,6 bis 8,o ml mit NH_3 eingestellt, auf 6 Zentrifugenbecher verteilt und bei 9ooo U.p.m. (≙1o.ooo g) in einer Eispirouette (Phywe, Göttingen) 1o min. zentrifugiert.
2. Die weitere Reihenfolge war (Angaben pro Zentrifugenbecher):

Fällung	Niederschlag der jeweils vorhergegangenen Fällung gelöst in ml H_2O	ml-gesättigte AS-Lösung zugefügt	≙ AS-Sättigung	Zentrifugierung bei g
2.	20	15	ca. 43%	7000
3.	21	14	ca. 40%	6000
4.	22	12	ca. 35%	4000
5.	24	12	ca. 33%	2500
6.	22	11	33%	2500

3. Die Überstände von (1)...(6) wurden vereinigt, über Nacht im Kühlschrank stehen gelassen,dann vorsichtig dekantiert. Die lockeren Sedimente wurden bei 7ooo U.p.m. (≙ 6ooo g) abzentrifugiert,in insgesamt 22 ml H_2O gelöst, mit 12 ml AS versetzt (= 35%-Sättigung) und anschließend zweimal bei 33%-Sättigung gefällt.
4. Die 33%-AS-Niederschläge wurden vereinigt, in insgesamt 3o ml H_2O gelöst, in einen Cellophanschlauch von 25 mm Durchmesser (Kalle u. Co., Wiesbaden) gefüllt und zwei Tage lang gegen je 2 l einer Lösung dialysiert, die o,o9% $NaHCO_3$ und o,o1% Cialit (Farbwerke Höchst) in Wasser enthielt und dreimal gewechselt wurde. Die dabei meist auftretende feinflockige Trübung wurde nicht abzentrifugiert.
5. Zu 5 Volumteilen dieser trüben Lösung wurde 1 Volumteil einer frisch bereiteten Lösung von 1,o g Rivanol in 25 ml H_2O (ohne NaCl) hinzugefügt (≙o,67 g% Rivanol-Endkonzentration).
6. Zentrifugierung 2o min. bei ca. 25oo g,zweimaliges Waschen der Niederschläge mit je 5 ml o,67 g%-Rivanollösung. In den Überständen waren die Gamma-Globuline enthalten.
7. Zu je 5 Volumteilen dieser Gamma-Globulinlösungen wurde 1 Volumteil einer 31 g%-NaCl-Lösung hinzugefügt. Diese Ansätze blieben ca. 6...8 Std. im Kühlschrank stehen. Das ausgefällte Rivanol wurde anschließend abzentrifugiert und der Niederschlag zweimal mit je 1o ml 5 g%-NaCl-Lösung gewaschen. Die noch schwach gelben Lösungen wurden 3 Tage gegen je 2 l mehrfach gewechselte o,o8 g%-NaCl--Lösung dialysiert,wobei die Cellophanmembran das restliche Rivanol adsorbierte. Eine allfällige Trübung wurde nicht abzentrifugiert.

8. Die dialysierten Gamma-Globulinlösungen wurden lyophilisiert und die Trockensubstanzen in höchstens 18...2o ml H_2O (nicht NaCl-Lösung) aufgelöst ≙1o...12 g% Gamma-Globulin in ca. o.9...1,2 g% NaCl-Lösung. Die Ausbeute bewegte sich zwischen 75 und 9o%, die Antikörperlösung bestand zu 95% aus Gamma-Globulinen ($Gamma_A$ und $Gamma_M$- Globulinen).

II. Versuche mit ^{131}J-TJT und ^{131}J-Tx.

Als Antikörper dienten Antihumanalbumin (Kaninchen--Gamma-Globulin) und ein Antihumanvollserum (Kaninchen-Gamma-Globulin), die auf den gleichen Antikörper--Titer eingestellt waren wie die Kaninchenvollseren aus denen sie gewonnen worden waren. Um die Seren und Albuminlösungen (Humanalbumin 'reinst' Behringwerke Nr. 2433) - jeweils 1o ml - auf einen physiologischen pH-Wert zu bringen, wurden sie zuerst in einem kleinen Plastikbecher mit einer 1o n-HCl-Lösung unter schnellem Rühren auf pH 6,o - 5,9 gebracht. Dieser pH-Wert blieb länger als 6 min. bestehen. Die Ansätze blieben über Nacht unter langsamem Rühren unbedeckt, wobei alles CO_2 entwich. Am anderen Tag wurden die Ansätze mit 8,5 n NH_4OH wieder auf pH 7,4 eingestellt, wobei die Konstanz des Wertes zwei Stunden lang kontrolliert wurde. Zuletzt wurde das Ausgangsvolumen von 1o ml durch entsalztes Wasser (aus einem Ministil-Mischbettaustauscher, Christ, Basel) wieder hergestellt. Um den pH-Wert konstant zu halten, wurden die Ansätze nach jedem Arbeitsgang sofort verschlossen.

1. Vorversuche

Zur Ermittlung des optimalen Fällungsbereiches wurden die Bindungsmaxima bestimmt und HEIDELBERGER--Präzipitationskurven durchgeführt.
Bindungsmaxima:
Als Antigene wurden mit 1oo µg% ^{131}J-Tx und ^{131}J--TJT inkubiertes 4%-Humanalbumin, Humanseren von einer Normalperson (Lang.), von einem Myxoedempatienten (Walt.) und ein Mischserum von Hyperthyreosepatienten mit T_3-Testwerten nach HAMOLSKY von mehr als 23%, bzw. weniger als 1o% (Walt), in gleichbleibender Menge verwandt. Als Antikörper wurde Antihumanalbumin (AHA) und Antihumanvollserum (AHVS) in steigenden Mengen zugesetzt und die Volumina der Ansätze mit physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,35) einander angeglichen.
HEIDELBERGER-Kurven:
Einer gleichbleibenden Antikörpermenge (AHA) wurden steigende Mengen der vier erwähnten, mit 1oo µg% ^{131}J-Tx inkubierten antigenhaltigen Humanseren zugesetzt.

2. Hauptversuch

Zu 2,o ml der auf pH 7,4 eingestellten Proteinlösung wurde 1,o µg% ^{131}J-Trijodthyronin (Radiothybon, Farbwerke Höchst, 19,5 mc/Mol) und in einem Parallelansatz 1,o µg% ^{131}J-Tx pro ml zugefügt. Diese Stammlösungen wurden mit den nicht-radioaktiven Proteinlösungen 1:2, 1:4, 1:2o und 1:2oo verdünnt und 14-34Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wurde die Antigen-Antikörper-Fällung durchgeführt. und die Präzipitate wurden 18 -24 Stunden in den Kühlschrank gestellt. Je nach Volumen des Präzipitats

wurde 2-3 mal gewaschen mit je 1,o - 3,o ml o,9% NaCl-Lösung von pH 7,4. Die Radioaktivitätsmessungen wurden jeweils vor und nach dem Waschen in Szintillations-Bohrlochkristallen (Frieseke und Höpfner, Erlangen) durchgeführt.

III. Eiweißbestimmung der Präzipitate.

Zur Eiweißbestimmung der Präzipitate wurde das von HEINZEL et al. (196o,1965) angegebene Amidoschwarz-Verfahren angewandt.Dazu wurden die Präzipitate in Glykollpuffer pH 2,o gelöst und die Lösungen quantitativ auf Polyesterpapier KO 6 (Macherey, Nagel u. Co.,Düren) übertragen. Nach Antrocknen wurde das Eiweiß mit Amidoschwarz 1o B (Merck, Darmstadt) gefärbt und der vom Eiweiß gebundene Farbstoff in alkoholischer Lösung eluiert. Die im Spektralphotometer bei 62o nm gemessenen Extinktionen der Eluate ergeben die Menge des vom Eiweiß gebundenen Amidoschwarz, aus der sich mittels der Farbbindungskoeffizienten die gesuchten Eiweißmengen der Präzipitate berechnen ließen.Durch das häufige Auswaschen und Übertragen des Antigen-Antikörper-Komplexes ergaben sich wechselnde Fehlerbreiten, der Kurvenverlauf der Jodbindungskurven stimmte jedoch prinzipiell mit den Eiweißkurven überein. Die tatsächlich präzipitierten Antigenmengen konnten speziell bei den Humanserum-AHVS-Versuchen außerdem deshalb nicht berechnet werden, weil die Amidoschwarz-Bindungskoeffizienten der zahlreichen Proteinkomponenten größtenteils unbekannt waren.

(C) Ergebnisse

Die als Vorversuche dienenden HEIDELBERGER-Präzipitationskurven (Abb.1) und deren Bindungsmaxima ergaben als optimales Antigen-Antikörper-Verhältnis auf je 25 ml Humanserum oder 4 g% ige Humanalbuminlösung jeweils o,15 ml Antihumanalbumin (AHA) oder o,5 ml Antihumanvollserum (AHVS). Wurde reines Antihumanalbumin über den Äquivalenzpunkt hinaus in steigenden Mengen zugefügt, so nahm die TJT- und Tx-Bindung (Ausnahme:Hypothyreoseserum) wieder ab (Abb.2) Bei Zugabe von mehr als o,3 ml AHVS pro o,25 ml Antigenlösung nahm die Bindung von Tx an Albumin ab, während bei den Vollseren ein weiterer Radioaktivitätsanstieg auftrat (Abb.3). Als wahrscheinlichste Ursache für diesesabweichende Verhalten des Albumins ist anzunehmen, daß die Antikörper-Gamma-Globuline mit geringen Mengen Tx-bindender Proteine verunreinigt waren. Da Tx an Albumin nicht so fest adsorbiert wird wie an inter-alpha-Globulin und Präalbumin, wirkt sich die Konkurrenz eines Tx-bindenden Proteins an Albumin stärker aus als an den eigentlichen Tx-bindenden Proteinen. Ferner wäre zu erwägen, daß eine Verdünnung des Ansatzvolumens an der lockeren Tx-Albumin-Bindung infolge einer höheren Dissoziationskonstante sich früher bemerkbar macht als an den anderen Tx-Proteinkomplexen. Wie das Bild ferner zeigt, enthält das verwendete AHVS-(Kaninchen-Gamma-Globulin) offenbar nicht genügend Antikörper gegen inter-alpha-Globulin und tryptophanreiches Präalbumin, da selbst nach Zusatz von 4 ml hochkonzentrierter Antikörperlösung noch keine auch nur annähernd vollständige Fällung von TJT und Tx zu verzeichnen war. Möglicherweise wird außerdem ein Teil der

TJT- und Tx-Bindungsplätze des Albumins durch überschüssige Antikörper-Moleküle blockiert. Dafür spricht vor allem ein sinngemäßes Verhalten von Bromphenolblau in analogen Ansätzen (KALLEE, LANG und HEINZEL 1963). In den Vorversuchen zeigten sich deutliche Bindungsunterschiede der Antigenlösungen. Die höchsten Radioaktivitätswerte ergaben die Fällungskurven mit Humanalbumin als Antigen; dagegen staffelten sich die Humanseren etwa entsprechend dem T_3-Test nach HAMOLSKY bis zu den niedrigsten Werten des Myxoedemserums. Der hierbei ermittelte optimale Fällungsbereich war die Grundlage des Ansatzes des im folgenden beschriebenen Hauptversuches: Gleichbleibende Antigenmengen mit variierten ^{131}J-Tx- oder ^{131}J-TJT-Konzentrationen wurden durch jeweils gleichbleibende Antikörpervolumina gefällt. TJT und Tx wurden je nach Schilddrüsenfunktion in unterschiedlicher Weise an Humanalbumin adsorbiert. Erwartungsgemäß war der Unterschied zwischen Myxoedemserum und Hyperthyreoseserum bei physiologischen TJT-Konzentrationen besonders groß. Die Differenz nahm zwar mit steigenden TJT-Konzentrationen ab, war aber selbst bei 5o µg% TJT noch deutlich messbar. Bei unphysiologisch hohen TJT-Zusätzen nahm in diesen Versuchen die prozentuale TJT-Bindung an reines Albumin nicht ab, sondern stieg wieder an. Eine Adsorption von freiem TJT an die Zentrifugengläschen schied nach Prüfung des Radioaktivitätsgehalts derselben aus. Zwar verdrängt TJT bei extrem hohen Zusätzen das sonst fester gebundene Thyroxin (ROBBINS), jedoch ist kaum anzunehmen, daß dadurch zusätzlich so viele neue Bindungsplätze verfügbar werden, daß sich dies in einem Anstieg der relativen Kapazitätswerte bemerkbar machen würde. Der Anstieg der Bindung von TJT an Albumin mit steigendem TJT-Zusatz ist daher

vorläufig als unerklärlich hinzunehmen, es sei denn es lägen wiederholte Messfehler vor. Die Prüfung der Proteinkonzentrationen in den Präzipitaten mit dem von HEINZEL et al. angegebenen Amidoschwarz-Verfahren ergab keine signifikanten Unterschiede.

Die Tx-Bindungskapazitäten des Albumins bei 5 µg% Tx lagen bei allen verwendeten Proteinlösungen um mehr als 5o% unter den ^{131}J-TJT-Bindungswerten. Bei steigenden Tx-Zusätzen ergab sich eine schwach ansteigende, annähernd gerade Kurve; das Bindungsmaximum scheint bei 5o µg% noch nicht erreicht zu sein (Abb. 4/5). Dies stimmt mit den Angaben von GILLICH überein, der bei hohen in vitro-Zusätzen eine Tx-Bindung an Albumin fand, die jene des inter-alpha-Globulins (4o-5o ug%) übertraf.

Bei Verwendung von Antihumanvollserum waren die Unterschiede zwischen den verschiedenen Humanseren nicht mehr so eindeutig wie nach der Präzipitation mit Antihumanalbumin. Auch bei niedrigen TJT-Zusätzen banden die Humanglobuline zusammen mit den Humanalbuminen nicht mehr als 4o%. Dies könnte aus einer ungenügenden Antikörper-Bildung der Kaninchen gegen alle TJT- und Tx-bindenden Globuline resultieren, so daß der Äquivalenzpunkt nur für einen Teil dieser Humanglobuline erreicht war, es ist auch nicht ausgeschlossen, daß bei einer Antigen-Antikörperreaktion in unmittelbarer Nähe des Äquivalenzpunktes ein Teil des Antigens mit unübersichtlicher Verzögerung ausfällt. Der Kurvenverlauf zeigt eine gewisse Ähnlichkeit mit den TJT-Präzipitationskurven.

Die ^{131}J-Tx-Bindungskurven bei Verwendung von Antihumanvollseren zeigen bei steigenden Tx-Zusätzen einen deutlichen Radioaktivitätsabfall bei Zusatz von 25 µg%,

bei weiteren Zusätzen steigt der Kurvenverlauf jedoch wieder an und überschreitet auch hier den Ausgangswert nicht wesentlich.
Dieser abwegige Adsorptionsverlauf wird nur verständlich, wenn man annimmt,daß das Antiserum gegen Antihumanvollserum sehr unterschiedliche Antikörpertiter gegen inter-alpha-Globulin,Präalbumin, Albumin und Lipoproteine enthält. Denn für gewöhnlich bilden Kaninchen gegen Antigengemische in völlig unvorhersehbarer Weise verschiedenartige Antikörper. Dementsprechend sind keine regulären Bindungskurven zu erwarten,wenn Antigengemische (Humanvollserum) mit variierten Hormonmengen versetzt werden müssen und mit Mischantikörpern gefällt werden. Es müssen dann verschiedene Radioaktivitätsmengen an die Präzipitate adsorbiert werden, je nachdem welches Antigen augenblicklich am meisten Schilddrüsenhormon bindet und je nachdem wieviel bindungsfähiges Antigen durch konstante Volumina der Antikörperlösung präzipitiert werden. Schließlich darf nicht übersehen werden, daß sich im Umgang mit kleinvolumigen Antigen-Antikörper-Präzipitaten vor allem während der Waschvorgänge (Umrühren, Dekantieren, unterschiedliche Packungsdichte der Präzipitationsflocken beim Zentrifugieren) erhebliche, kaum übersehbare Fehler einschleichen können. Aber auch wenn sich die absoluten Bindungswerte in den hier durchgeführten Untersuchungen nicht sicher festlegen ließen, so wären doch bei den verschiedenen Funktionszuständen der Schilddrüse bei vergleichbarer Technik empirisch deutliche Unterschiede nachweisbar.
Ein ähnliches Verhalten zeigten auch die Bindungswerte bei Verwendung von ^{131}J-TJT (Abb.5a). Wurden die Proteine mit Antihumanvollserum (Kaninchen-Gamma-Globulin) ausgefällt,dann war niemals die gesamte Hormonradioaktivität im Präzipitat enthalten. Dies deutet darauf hin, daß die

Kaninchen so gut wie keine Antikörper gegen inter-alpha-Globulin und Präalbumin gebildet hatten. Einigermaßen klare Ergebnisse ließen sich nur mit Antihumanalbumin erzielen, obwohl auch dieser Antikörper nicht einheitlich war: Es waren darin noch erhebliche Verunreinigungen durch Anti-alpha$_1$-Lipoprotein. Diese Verunreinigung läßt den undulierenden Verlauf der Bindungskurven in Abb. 5b verstehen.

Abb.1. HEIDELBERGER-Präzipitinkurven mit ^{131}J-Thyroxin.

Die Antigenlösungen enthielten jeweils 1oo µg% ^{131}J-Thyroxin. Die Präzipitation erfolgte bei pH 7,4 ohne Zusatz von Puffern. Mit Hilfe der Maxima wurde das optimale Verhältnis zwischen Antigen und Antikörper ermittelt. Die Bindung von ^{131}J-Tx war im Hyperthyreosemischserum höher als bei den anderen Seren, weil hier die Bindungskapazität aller anderen Proteine schon weitgehend erschöpft war. Die Bindung an Humanalbumin ('reinst' Behringwerke) ist beträchtlich wegen der Abwesenheit anderer Tx-bindender Proteine.

Abb.1

HEIDELBERGER-Kurven Tx

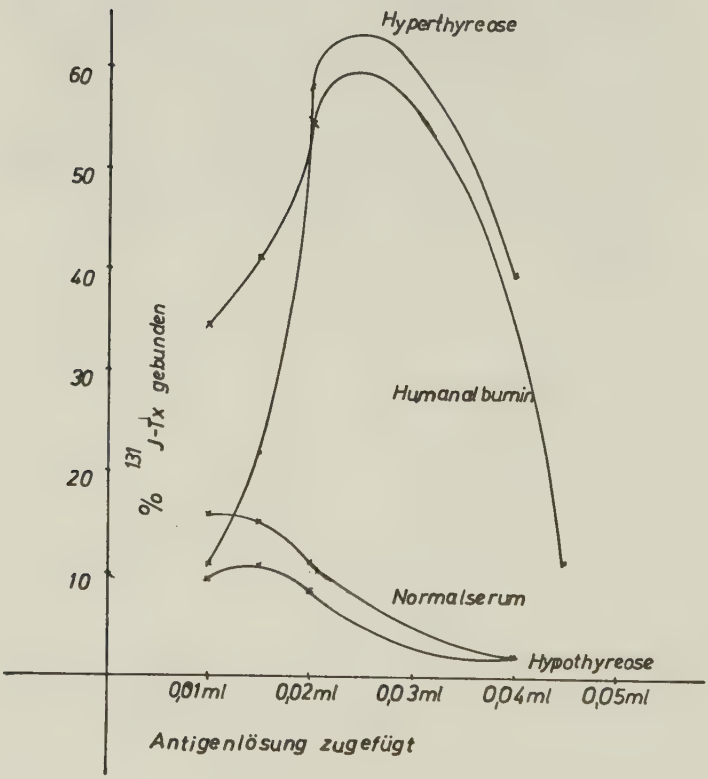

Tabelle 1 zu Abbildung 1

Nr.	AG-Menge	AK-Menge	^{131}J-Menge	E $^{10\ ml}/_{1\ cm}$	^{131}J-Tx B %
1(7)	0,01 ml HA	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,1077	34,6 %
1(8)	0,15 ml HA	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,2500	42,4 %
1(5)	0,02 ml HA	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,2240	54,4 %
1(3)	0,12 ml HA	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,0237	2, 9 %
1(4)	0,24 ml HA	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,0344	3,1 %
1(6)	0,045 ml HA	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,0836	12,4 %
2(1)	0,010 ml Hypo	"	"	"	0,199	9,9 %
2(2)	0,015 ml Hypo	"	"	"	0,237	11,6 %
2(3)	0,02 ml Hypo	"	"	"	0,186	8, 3 %
2(4)	0,04 ml Hypo	"	"	"	0,095	0,2 %
3(1)	0,010 ml Normal	"	"	"	0,224	15,8 %
3(2)	0,015 ml Normal	"	"	"	0,234	15,1 %
3(3)	0,020 ml Normal	"	"	"	0,172	11,1 %
3(4)	0,030 ml Normal	"	"	"	0,069	0,2 %
4(1)	0,010 ml Hyper	"	"	"	0,164	10,1 %
4(2)	0,015 ml Hyper	"	"	"	0,196	21,9 %
4(3)	0,020 ml Hyper	"	"	"	0,215	57,97 %
4(4)	0,040 ml Hyper	"	"	"	0,081	39,65 %

Abb. 2. Ermittlung des optimalen Zusatzes von Anti-humanalbumin.

Im Gegensatz zu Abb.1 wurden hier nicht die Antigenmengen variiert sondern das Antikörpervolumen.

a. Die Antigenlösungen enthielten jeweils 1oo µg% ^{131}J-Trijodthyronin. Die Fällung erfolgte unter prinzipiell gleichen Bedingungen wie bei Abb.1.

b. Die Antigenlösungen enthielten jeweils 1oo µg% ^{131}J-Thyroxin.Die Gründe für die Divergenz der Maxima in Abb.1 konnte nicht geklärt werden.

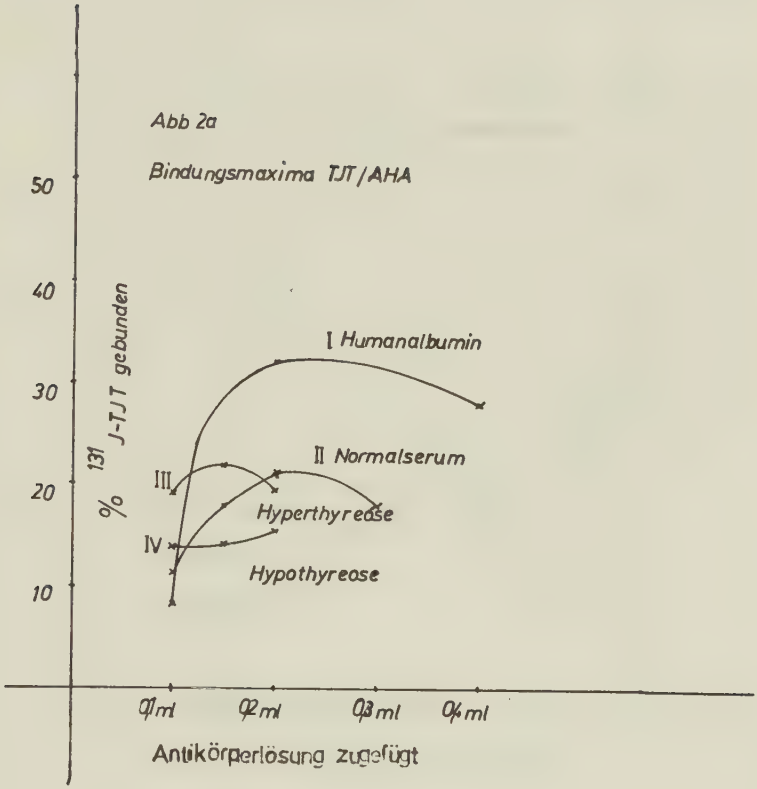
Abb 2a
Bindungsmaxima TJT/AHA
50
40
30
20
10
% 131 J-TJT gebunden
I Humanalbumin
II Normalserum
III
Hyperthyreose
IV
Hypothyreose
0,1 ml
0,2 ml
0,3 ml
0,4 ml
Antikörperlösung zugefügt

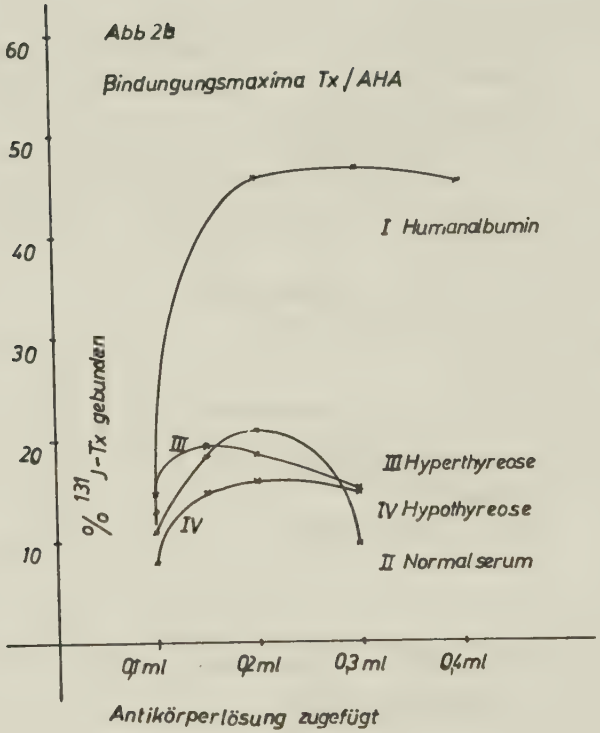
Abb 2b
Bindungungsmaxima Tx / AHA
60
50
40
30
20
10
% 131 J-Tx gebunden
I Humanalbumin
III Hyperthyreose
IV Hypothyreose
II Normalserum
III
IV
0,1 ml
0,2 ml
0,3 ml
0,4 ml
Antikörperlösung zugefügt

Abb.3. Ermittlung des optimalen Zusatzes von Antihumanvollserum.

a. Da die Antikörperlösung nicht nur Antikörper gegen Antihumanalbumin enthielt, sondern auch gegen die anderen TJT-bindenden Serumproteine, sind keine so deutlichen Unterschiede wie in Abb.2 mehr festzustellen zwischen der Hormonbindung an Albumin und an Patientenseren. Die Versuchsreihe mit Normalserum war aus technischen Gründen nicht verwertbar.

b. Auch bei der Tx-Bindung waren ähnlich wie in Abb.3 die Unterschiede zwischen den Antigenlösungen nicht mehr so deutlich wie in Abb.2. Jedoch liegen die Bindungswerte des Hypothyreosenserums deshalb niedriger, weil die Antikörperlösung hauptsächlich Antikörper gegen Albumin enthielt und nur wenige Antikörper gegen inter-alpha-Globulin.

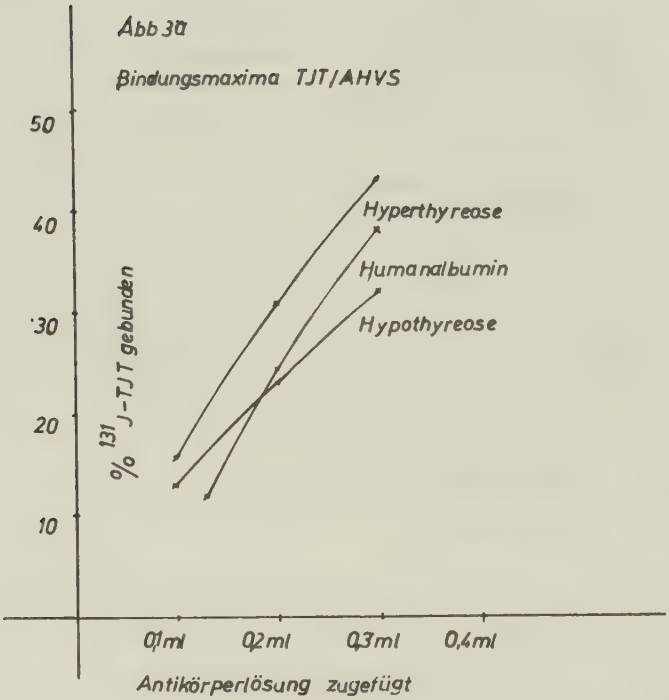
Abb 3a
Bindungsmaxima TJT/AHVS
50
40
30
20
10
% 131 J-TJT gebunden
Hyperthyreose
Humanalbumin
Hypothyreose
0,1ml
0,2ml
0,3ml
0,4ml
Antikörperlösung zugefügt

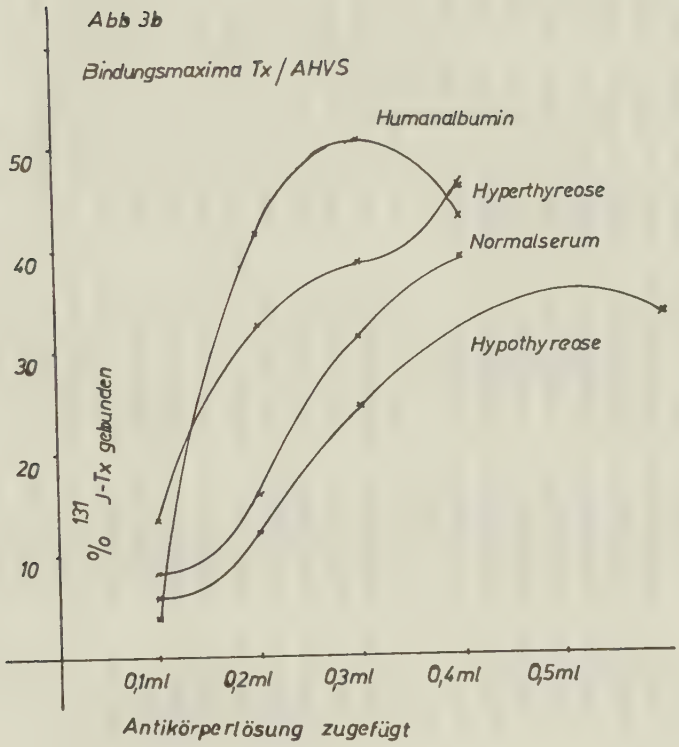
Abb 3b
Bindungsmaxima Tx / AHVS
Humanalbumin
Hyperthyreose
Normalserum
Hypothyreose
50
40
30
20
10
% 131 J-Tx gebunden
0,1ml
0,2ml
0,3ml
0,4ml
0,5ml
Antikörperlösung zugefügt

Bindungsmaxima Tx Messwerte zu Abb. 2a-2b-3a-3b.

Nr.	Ag-Menge	AK-Menge	^{131}J-Menge	E $^{10\ ml}/_{1\ cm}$	^{131}J-Tx B 4
1(9)	0,05 ml HA	0,05 ml AHA	100 µg% Tx	0,01509	3,8 %
1(10)	0,05 ml HA	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,0732	12,9 %
1(11)	0,05 ml HA	0,20 ml AHA	100 µg% Tx	0,4655	45,9 %
1(14)	0,05 ml HA	0,30 ml AHA	100 µg% Tx	0,742	46,45 %
1(12)	0,05 ml HA	0,40 ml AHA	100 µg% Tx	0,931	45,1 %
1(13)	0,05 ml HA	0,60 ml AHA	100 µg% Tx	1,103	36,2 %
1(16)	0,025 ml HA	0,10 ml AHVS	100 µg% Tx	0,0215	3,83 %
1(17)	0,025 ml HA	0,20 ml AHVS	100 µg% Tx	0,269	41,61 %
1(18)	0,025 ml HA	0,30 ml AHVS	100 µg% Tx	0,431	50,71 %
1(19)	0,025 ml HA	0,40 ml AHVS	100 µg% Tx	0,500	43,16 %
2(5)	0,025 ml Hypo	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,153	7,9 %
2(6)	0,025 ml Hypo	0,15 ml AHA	100 µg% Tx	0,1508	14,9 %
2(7)	0,025 ml Hypo	0,20 ml AHA	100 µg% Tx	0,036	15,7 %
2(8)	0,025 ml Hypo	0,30 ml AHA	100 µg% Tx	0,144	14,9 %
2(9)	0,025 ml Hypo	0,10 ml AHVS	100 µg% Tx	0,150	5,93 %
2(10)	0,025 ml Hypo	0,20 ml AHVS	100 µg% Tx	0,327	12,45 %
2(11)	0,025 ml Hypo	0,30 ml AHVS	100 µg% Tx	0,672	24,97 %
2(12)	0,025 ml Hypo	0,60 ml AHVS	100 µg% Tx	1,061	33,55 %

Bindungsmaxima Tx

Messwerte zu Abb. 2a-2b-3a-3b.

Nr.	AG-Menge	AK-Menge	^{131}J-Menge	E $^{10\ ml}/_{1\ cm}$	^{131}J-Tx B %
3(5)	0,025 ml Normal	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,168	10,9 %
3(6)	0,025 ml Normal	0,15 ml AHA	100 µg% Tx	0,239	18,2 %
3(7)	0,025 ml Normal	0,20 ml AHA	100 µg% Tx	0,603	20,9 %
3(8)	0,025 ml Normal	0,30 ml AHA	100 µg% Tx	0,465	9,6 %
3(9)	0,025 ml Normal	0,10 ml AHVS	100 µg% Tx	0,133	7,74 %
3(10)	0,025 ml Normal	0,20 ml AHVS	100 µg% Tx	0,161	16,56 %
3(11)	0,025 ml Normal	0,30 ml AHVS	100 µg% Tx	0,672	31,35 %
3(12)	0,025 ml Normal	0,40 ml AHVS	100 µg% Tx	0,918	38,28 %
4(5)	0,025 ml Hyper	0,10 ml AHA	100 µg% Tx	0,224	14,65 %
4(6)	0,025 ml Hyper	0,15 ml AHA	100 µg% Tx	0,311	19,12 %
4(7)	0,025 ml Hyper	0,20 ml AHA	100 µg% Tx	0,862	18,50 %
4(8)	0,025 ml Hyper	0,30 ml AHA	100 µg% Tx	0,364	14,99 %
4(9)	0,025 ml Hyper	0,10 ml AHVS	100 µg% Tx	0,156	13,44 %
4(10)	0,025 ml Hyper	0,20 ml AHVS	100 µg% Tx	0,888	32,67 %
4(11)	0,025 ml Hyper	0,30 ml AHVS	100 µg% Tx	0,784	38,67 %
4(12)	0,025 ml Hyper	0,40 ml AHVS	100 µg% Tx	1,445	46,34 %

Bindungsmaxima TJT Messwerte zu Abb. 2a-2b-3a-3b.

Nr,	AG-Menge	AK-Menge	^{131}J-Menge	E $^{10\ ml}/_{1\ cm}$	^{131}J-TJTB%
1(1)	0,05 ml HA	0,1 ml AHA	100 µg% TJT	0,620	8,13 %
1(2)	0,05 ml HA	0,2 ml AHA	100 µg% TJT	0,301	32,3 %
1(3)	0,05 ml HA	0,4 ml AHA	100 µg% TJT	0,931	28,2 %
1(4)	0,025 ml HA	0,13 ml AHVS	100 µg% TJT	0,121	11,74 %
1(5)	0,025 ml HA	0,2 ml AHVS	100 µg% TJT	0,509	24,33 %
1(6)	0,025 ml HA	0,3 ml AHVS	100 µg% TJT	0,109	37,17 %
2(1)	0,025 ml Hypo	0,10 ml AHA	100 µg% TJT	0,202	13,57 %
2(2)	0,025 ml Hypo	0,15 ml AHA	100 µg% TJT	0,324	14,00 %
2(3)	0,025 ml Hypo	0,20 ml AHA	100 µg% TJT	0,477	15,35 %
2(4)	0,025 ml Hypo	0,10 ml AHVS	100 µg% TJT	0,146	12,56 %
2(5)	0,025 ml Hypo	0,20 ml AHVS	100 µg% TJT	0,345	23,18 %
2(6)	0,025 ml Hypo	0,30 ml AHVS	100 µg% TJT	0,673	32,30 %
2(6)					
3(1)	0,025 ml Normal	0,10 ml AHA	100 µg% TJT	0,215	11,67 %
3(2)	0,025 ml Normal	0,15 ml AHA	100 µg% TJT	0,366	18,03 %
3(3)	0,025 ml Normal	0,20 ml AHA	100 µg% TJT	0,500	20,10 %
3(4)	0,025 ml Normal	0,30 ml AHA	100 µg% TJT	0,612	17,92 %
4(1)	0,025 ml Hyper	0,10 ml AHA	100 µg% TJT	0,259	19,20 %
4(2)	0,025 ml Hyper	0,15 ml AHA	100 µg% TJT	0,405	21,80 %
4(3)	0,025 ml Hyper	0,20 ml AHA	100 µg% TJT	0,444	19,69 %
4(4)	0,025 ml Hyper	0,10 ml AHVS	100 µg% TJT	0,207	15,83 %
4(5)	0,025 ml Hyper	0,20 ml AHVS	100 µg% TJT		30,10 %
4(6)	0,025 ml Hyper	0,30 ml AHVS	100 µg% TJT	0,630	43,06 %

Abb.4. Konzentrationsabhängigkeit der Bindung von ^{131}J-Thyroxin an verschiedene Antigene.

a. Bei der Versuchsreihe die unter Zusatz von 25 µg% Tx erfolgte, ist aus unbekannten Gründen offenbar eine Hemmung aufgetreten.

b. Im Gegensatz zu Abb.4a und Abb.3 lassen sich mit Antihumanalbumin deutliche Unterschiede bei verschiedenen Funktionszuständen der Schilddrüse feststellen.

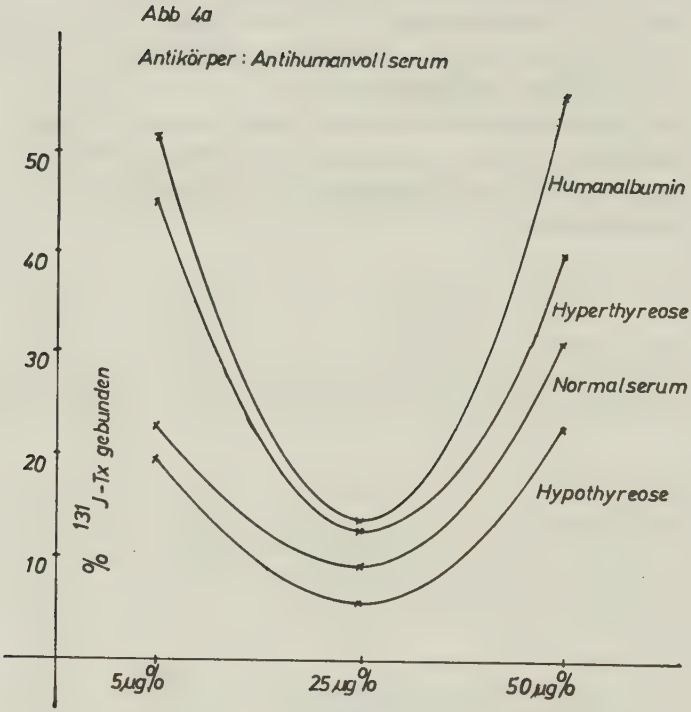
Abb 4a
Antikörper : Antihumanvollserum
50
40
30
20
10
% 131 J-Tx gebunden
Humanalbumin
Hyperthyreose
Normalserum
Hypothyreose
5 µg%
25 µg%
50 µg%

Fällungskurven Tx/AHVS — Messwerte zu Abb. 4a

Nr.	AG-Menge	AK-Menge	^{131}J-Menge	E 10 ml/1 cm	^{131}J-Tx B %
H 33/34	0,025 ml HA	0,5 ml AHVS	5 µg%	0,568	51,5 %
H 41/42	0,025 ml HA	0,5 ml AHVS	25 µg%	0,529	13,65 %
H 49/50	0,025 ml HA	0,5 ml AHVS	50 µg%	0,550	55,53 %
H 35/36	0,025 ml H$_v$po	0,5 ml AHVS	5 µg%	0,8	19,75 %
H 43/44	0,025 ml Hypo	0,5 ml AHVS	25 µg%	0,84	5, 97 %
H 51/52	0,025 ml Hypo	0,5 ml AHVS	50 µg%	0,792	22,86 %
H 37/38	0,025 ml Normal	0,5 ml AHVS	5 µg%	1,03	25,61 %
H 45/46	0,025 ml Normal	0,5 ml AHVS	25 µg%	0,862	9,29 %
H 53/54	0,025 ml Normal	0,5 ml AHVS	50 µg%	0,754	31,44 %
H 39/40	0,025 ml Hyper	0,5 ml AHVS	5 µg%	0,775	45,12 %
H 47/48	0,025 ml Hyper	0,5 ml AHVS	25 µg%	0,78	12,80 %
H 55/56	0,025 ml Hyper	0,5 ml AHVS	50 µg%	0,81	39,95 %

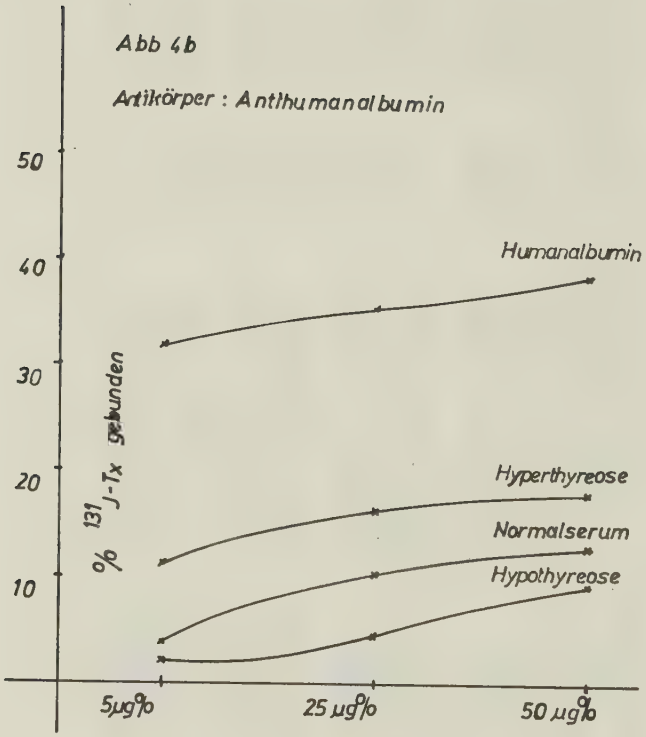
Abb 4b
Antikörper : Anthumanalbumin
50
40
30
20
10
% 131J-Tx gebunden
Humanalbumin
Hyperthyreose
Normalserum
Hypothyreose
5µg%
25 µg%
50 µg%

Fällungskurven Tx/AHA Messwerte zu Abb. 4b

Nr.	AG-Menge	AK-Menge	^{131}J-Menge	E $^{10\ ml}/_{1\ cm}$	^{131}J-Tx B %
H 9/10	0,025 ml HA	0,15 ml AHA	5,0 µg% Tx	0,3	31,96 %
H 17/18	0,025 ml HA	0,15 ml AHA	25,0 µg% Tx	0,26	35,38 %
H 25/26	0,025 ml HA	0,15 ml AHA	50,0 µg% Tx	0,232	38,09 %
H 1/2	0,025 ml HA	0,60 ml AHA	0,5 µg% Tx	0,366	8,5 %
H 3/4	0,025 ml Hypo	0,60 ml AHA	0,5 µg% Tx	0,31	2,0 %
H 11/12	0,025 ml Hypo	0,15 ml AHA	5,0 µg% Tx	0,289	2,36 %
H 19/20	0,025 ml Hypo	0,15 ml AHA	25,0 µg% Tx	0,282	4,68 %
H 27/26	0,025 ml Hypo	0,15 ml AHA	50,0 µg% Tx	0,26	9,22 %
H 5/6	0,025 ml Normal	0,60 ml AHA	0,5 µg% Tx	0,3	2,8 %
H 13/14	0,025 ml Normal	0,15 ml AHA	5,0 µg% Tx	0,27	3,8 %
H 21/22	0,025 ml Normal	0,15 ml AHA	25,0 µg% Tx	0,25	10,11 %
H 29/30	0,025 ml Normal	0,15 ml AHA	50,0 µg% Tx	0,25	12,7 %
H 7/8	0,025 ml Hyper	0,60 ml AHA	0,5 µg% Tx	0,3	6,5 %
H 15/16	0,025 ml Hyper	0,15 ml AHA	5,0 µg% Tx	0,31	11,15 %
H 23/24	0,025 ml Hyper	0,15 ml AHA	25,0 µg% Tx	0,26	16,34 %
H 31/32	0,025 ml Hyper	0,15 ml AHA	50,0 µg% Tx	0,21	17,36 %

Abb.5. Konzentrationsabhängigkeit der Bindung von ^{131}J-Trijodthyronin an verschiedene Antigene.

a. Beim Zusatz von Antihumanvollserum als Antikörper lassen sich hier keine deutlichen Bindungsunterschiede entsprechend den verschiedenen Funktionszuständen der Schilddrüse feststellen,da der Antikörper nahezu keine Fraktionen gegen inter--alpha-Globulin und Präalbumin enthielt.

b. Beim Zusatz von Antihumanalbumin lassen sich ähnlich deutliche Unterschiede wie in Abb.4a erkennen.

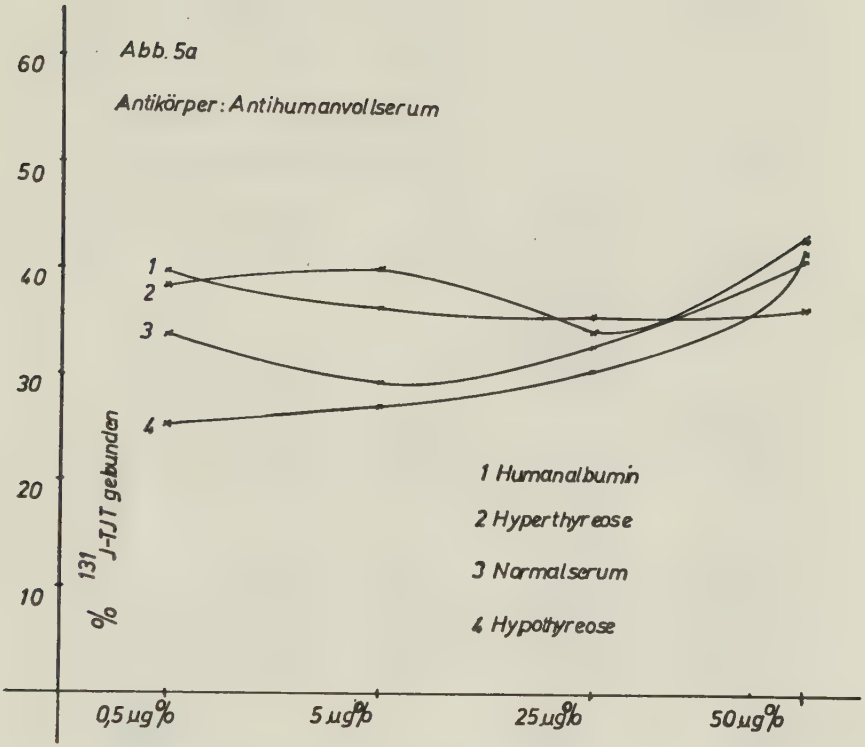
Abb. 5a
Antikörper: Antihumanvollserum
60
50
40
30
20
10
% 131 J-TJT gebunden
1
2
3
4
1 Humanalbumin
2 Hyperthyreose
3 Normalserum
4 Hypothyreose
0,5 µg%
5 µg%
25 µg%
50 µg%

Fällungskurven TJT/AHVS

Messwerte zu Abb. 5a

Nr.	AG-Menge	AK-Menge	^{131}J-Menge	E $^{10\ ml}/_{1\ cm}$	^{131}J-TJT B %
H 89/90	0,025 ml HA	0,5 ml AHVS	0,5 µg% TJT	0,76	39,7 %
H 97/98	0,025 ml HA	0,5 ml AHVS	5,0 µg% TJT	0,606	36,2 %
H 105/106	0,025 ml HA	0,5 ml AHVS	25,0 µg% TJT	0,658	35,78 %
H 113/114	0,025 ml HA	0,5 ml AHVS	50,0 µg% TJT	0,66	36,33 %
H 91/92	0,025 ml Hypo	0,5 ml AHVS	0,5 µg% TJT	0,97	25,1 %
H 99/100	0,025 ml Hypo	0,5 ml AHVS	5,0 µg% TJT	1,1	26,96 %
H 107/108	0,025 ml Hypo	0,5 ml AHVS	25,0 µg% TJT	0,93	30,50 %
H 115/116	0,025 ml Hypo	0,5 ml AHVS	50,0 µg% TJT	0,97	41,80 %
H 93/94	0,025 ml Normal	0,5 ml AHVS	0,5 µg% TJT	0,94	33,7 %
H 101/102	0,025 ml Normal	0,5 ml AHVS	5,0 µg% TJT	0,96	29,25 %
H 109/110	0,025 ml Normal	0,5 ml AHVS	25,0 µg% TJT	0,994	32,9 %
H 117/118	0,025 ml Normal	0,5 ml AHVS	50,0 µg% TJT	1,499	41,0 %
H 95/96	0,025 ml Hyper	0,5 ml AHVS	0,5 µg% TJT	0,777	38,42 %
H 103/104	0,025 ml Hyper	0,5 ml AHVS	5,0 µg% TJT	0,851	40,0 %
H 111/112	0,025 ml Hyper	0,5 ml AHVS	25,0 µg% TJT	0,897	34,1 %
H 119/120	0,025 ml Hyper	0,5 ml AHVS	50,0 µg% TJT	0,929	42,6 %

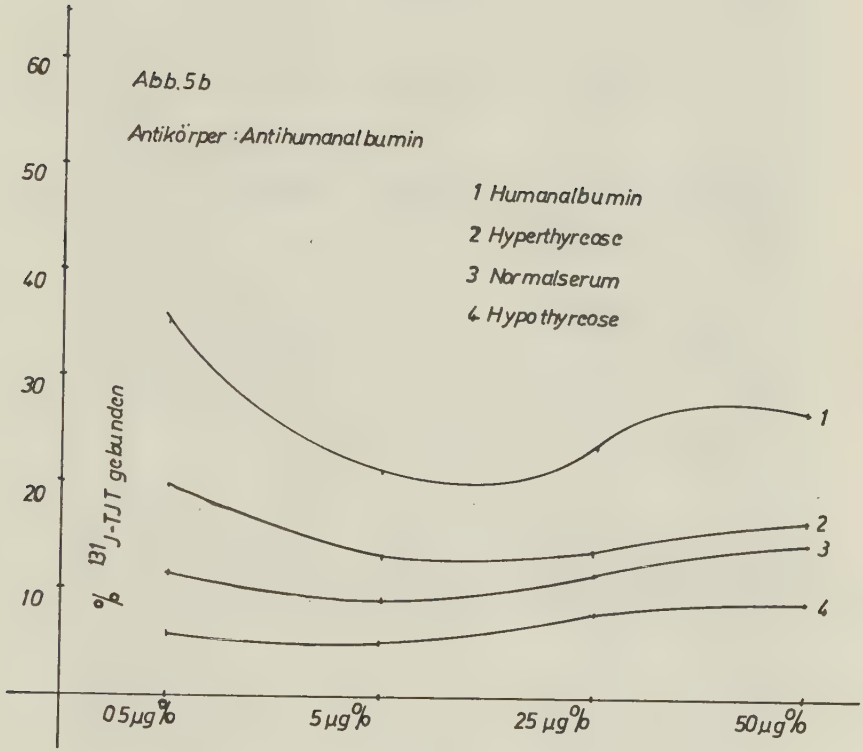
Abb. 5b
Antikörper : Antihumanalbumin
1 Humanalbumin
2 Hyperthyreose
3 Normalserum
4 Hypothyreose
% ^{131}J-TJT gebunden
60
50
40
30
20
10
0,5µg%
5µg%
25µg%
50µg%
1
2
3
4

Fällungskurven TJT/AHA — Messwerte zu Abb. 5b

Nr.	Ag-Menge	AK-Menge	^{131}J-Menge	E $^{10\ ml}/_{1\ cm}$	^{131}J-TJT B %
H 57	0,10 ml HA	0,60 ml AHA	0,5 µg% TJT	1,345	35,2 %
H 65/66	0,025 ml HA	0,15 ml AHA	5,0 µg% TJT	0,367	21,1 %
H 73/74	0,025 ml HA	0,15 ml AHA	25,0 µg% TJT	0,332	23,6 %
H 81/82	0,025 ml HA	0,15 ml AHA	50,0 µg% TJT	0,355	26,8 %
H 59	0,10 ml Hypo	0,60 ml AHA	0,5 µg% TJT	0,306	5,75 %
H 67/68	0,025 ml Hypo	0,15 ml AHA	5,0 µg% TJT	0,308	5,0 %
H 75/76	0,025 ml Hypo	0,15 ml AHA	25,0 µg% TJT	0,332	7,9 %
H 83/84	0,025 ml Hypo	0,15 ml AHA	50,0 µg% TJT	0,321	8,95 %
H 61	0,10 ml Normal	0,60 ml AHA	0,5 µg% TJT	0,35	11,65 %
H 69/70	0,025 ml Normal	0,15 ml AHA	5,0 µg% TJT	0,342	9,1 %
H 77/78	0,025 ml Normal	0,15 ml AHA	25,0 µg% TJT	0,339	11,52 %
H 85/86	0,025 ml Normal	0,15 ml AHA	50,0 µg% TJT	0,335	14,50 %
H 63	0,10 ml Hyper	0,60 ml AHA	0,5 µg% TJT	0,334	19,95 %
H 71/72	0,025 ml Hyper	0,15 ml AHA	5,0 µg% TJT	0,348	13,26 %
H 79/80	0,025 ml Hyper	0,15 ml AHA	25,0 µg% TJT	0,340	13,63 %
H 87/88	0,025 ml Hyper	0,15 ml AHA	50,0 µg% TJT	0,379	16,96 %

(D) Diskussion

Wie die vorliegenden Ergebnisse erkennen lassen, ist die immunologische Präzipitationstechnik prinzipiell durchaus geeignet, die Adsorption von Schilddrüsenhormonen an Serumproteine, insbesondere an Humanalbumin, zu bestimmen. Es ließen sich eindeutige Bindungsunterschiede zwischen Myxoedemserum und Hyperthyreoseserum erkennen.

Die Präzipitationstechnik selbst ist einer beträchtlichen Störanfälligkeit ausgesetzt. Dies geht im Zusammenhang mit der vorliegenden Materie aus systematischen Untersuchungen von BATZER (1968) hervor. Danach kann sogar die Fällung von radiojodiertem Humanalbumin ganz erheblich schwanken. Selbst im Antikörperüberschußbereich können unter ungünstigen Bedingungen 15 - 5o % des Antigens unpräzipitiert bleiben. Möglicherweise können sich hier antigenbindende, nicht präzipitierende Antikörper je nach Gleichgewichtslage in verschiedenem Umfang als Hemmkörper bemerkbar machen. Daher wird es unerläßlich sein, die Vollständigkeit der Antigenfällung mit Hilfe eines radioaktiv markierten Antigens zu kontrollieren. Im Falle der Schilddrüsenhormone kommt als einziges leicht zugängliches bindungsfähiges Protein das Albumin in Frage. Allerdings ist auch hier von vornherein zu beachten, daß radiojodierte Proteine je nach Jodierungsgrad in ihren immunologischen Eigenschaften verändert sein können (Übersicht bei KALLEE 1969).

Mischantikörper gegen Humanvollserum können für Bindungsstudien nur dann geeignet sein, wenn sie alle Serumproteine, die Schilddrüsenhormone adsorbieren können, vollständig auszufällen vermögen. Dieses Ziel läßt sich nur erreichen, indem Antikörper gegen jedes der jodhormon-

bindenden Proteine (inter-alpha-Globulin, Präalbumin, Albumin, alpha-beta-Lipoproteine, Orosomukoid) separat hergestellt werden. Von jedem dieser Antikörper müßte dann der Präzipitationstiter bestimmt werden, um eine dementsprechende anteilige Mischung herzustellen.

Aber auch dieser Idealfall wird sich aus verschiedenen Gründen kaum verwirklichen lassen. Erstens läßt sich der hauptsächliche Adsorbent für Schilddrüsenhormone, das inter-alpha-Globulin, gegenwärtig nur im Gemisch mit mindestens zwei benachbarten Glykoproteinen gewinnen. Zweitens produzieren Kaninchen im allgemeinen nur wenig Antikörper gegen Glykoproteine. Zur Hyperimmunisierung gegen Glykoproteine sind hauptsächlich Pferde und Ziegen geeignet. Drittens können die Konzentrationen aller jodhormonbindenden Proteine erheblichen, quantitativ kaum vorhersehbaren Schwankungen unterworfen sein. Die Antikörpertiter gegen alle diese jodhormonbindenden Proteine müßten wahrscheinlich einen Spielraum für einen 3 - 5 fach gegenüber der Norm erhöhten Spiegel aufweisen. Im Verhältnis zu diesen Dimensionen sind die Abweichungen der Albuminkonzentrationen von der Norm nach oben vernachlässigbar gering. Auch von diesem Standpunkt aus erscheint Serumalbumin der brauchbarste Akzeptor für immunologische Untersuchungen über die Bindungskapazität der Serumproteine für Schilddrüsenhormone zu sein.

(E) ZUSAMMENFASSUNG

1. Kaninchen wurden teils gegen Humanserumalbumin, teils gegen Humanvollserum hypersensibilisiert. Aus den Antiseren dieser Tiere wurden hochgereinigte Antikörper-γ-Globuline gewonnen, mit welchen die Adsorption von Schilddrüsenhormonen an Humanserumproteine mittels Immunpräzipitation untersucht werden konnte.

2. Bei Zusätzen von 5 bis 5o µg% ^{131}J-l-Thyroxin (=Tx) ließen sich maximal bis zu 63 % der Radioaktivität zusammen mit Humanalbumin präzipitieren. Im Serum eines Myxödempatienten war die Bindung von Tx an Albumin geringer als in Normalserum oder gar in einem Mischserum von Hyperthyreosepatienten.

3. Bei Zusätzen von o,5 bis 50 µg% ^{131}J-l-Trijodthyronin (=TJT) fanden sich maximal etwa bis zu 43 % der Radioaktivität zusammen mit Humanalbumin präzipitiert. Mit Hilfe der TJT-Bindung ließen sich Unterschiede zwischen verschiedenen Funktionszuständen der Schilddrüse deutlicher nachweisen als mit Tx, allerdings nur bei sehr niedrigen TJT-Konzentrationen.

4. Auch mit Hilfe von Antikörpern gegen Humanvollserum ließen sich deutliche Unterschiede zwischen Über- und Unterfunktion der Schilddrüse feststellen. Unübersichtliche Schwankungen der Bindungswerte bei verschiedenen Jodhormonkonzentrationen lassen aber die Verwendung solcher Mischantikörper weniger geeignet erscheinen als einheitliches Antihumanalbumin.

(F) Literatur

ALY, F.W.
Das tryptophanreiche Präalbumin.
Habilitationsschrift, Tübingen,1966.

BATZER, E.
Bindung von ^{131}J-Trijodthyronin und ^{131}J-Thyroxin an Antigen-Antikörperkomplexe (Humanalbuminbindung).
Inauguraldissertation, Univ. Tübingen,1968.

GILLICH, K.H.
Quantitative Bestimmung der Bindung von ^{131}J-Thyroxin durch Serumeiweißkörper mit der Überwanderungselektrophorese.
Z.exp.Med.,130 (1958) 415.

GILLICH, K.H. und ALY, F.W.
Die Präalbumin-Thyroxin- und Trijodthyroninbindung im Serum.
Verh.Deut.Ges.inn.Med., 66 (1966),711.

HAMOLSKY, M.W., FISCHER, D.B. & FREEDBERG, A.S.
Further studies on the plasma protein-thyroid hormone complex.
Endocrinology, 66 (1960),780.

HEINZEL, W.
Ein neues Verfahren zur quantitativen Eiweißbestimmung.
Verhandl.Dtsch.Ges.inn.Med., 66 (1960),636.

KABAT, E.A. and MAYER, M.M.
Experimental Immunochemistry, 2nd Ed.
Thomas, Springfield, 1961, p.871.

KALLEE, E.
Die reversible Bindung von Schilddrüsenhormonen und anionischen Farbstoffen an Proteine und ihre Bedeutung für Permeabilitätsvorgänge an den Zellgrenzen.
Habilitationsschrift, Tübingen (1961).

KALLEE, E.
Bindung von Schilddrüsenhormonen an Proteine. Experimentelle Untersuchungen und theoretische Betrachtungen über Adsorptionsverteilungsgleichgewichte.
Acta isotop.6 : 1966 (Padova) Suppl.,1966.

KALLEE, E.
Die Inselzellhormone: radiojodiertes Insulin.
In: 'Handbuch des Diabetes mellitus'. (Hrsg.: J.F.Pfeiffer), Band I, S.247ff, Lehmann, München 1969.

KALLEE,E., LANG,G. und HEINZEL, W.
Neuer quantitativer immunologischer Nachweis der leichtreversiblen Adsorption an Proteine.
Acta isotop. (Padova) 3:3o3,1963.

OSORIO, C., D.J.JACKSON, J.M.GARTSIDE and A.W.G.GOOLDEN
Note on the measurement of thyroxin-binding globulin capacity.
J.Clin.Endocr.Metab.,23 (1963) 116.

ROBBINS, J. und J.E.RALL
The Iodine-Containing Hormones.
In: 'Hormones in Blood.'(Hrsg.: C.H.Gray und A.L.Bacharach) 2.Aufl., Bd.1, 396ff.
Academic Press London 1967.

ROBBINS, J. und J.E.RALL
Effects of trijodthyronine and other thyroxine analogues on thyroxine-binding in human serum.
J.Clin.Invest., 34:1331,1955.

STEFFEN, C.
Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunopathologie.
Thieme, Stuttgart 1968

STERLING, K., ROSEN, P. and TABACHNICK, M.
Equilibrium dialysis studies of the binding of thyroxine by human serum albumin.
J.Clin.Invest., 41 (1962), 1o21.

TATA, J.R.
Transport of thyroid hormones.
Brit.Med.Bull., 16 : 142, 196o.

Herrn Prof. Dr. med. Kallee, der mir das Thema dieser Arbeit überlassen hat, gilt für die Anleitung und für die zahlreichen Ratschläge bei der Fertigstellung meiner Arbeit mein herzlicher Dank.

Lebenslauf

Am 7. Juli 1941 wurde ich, Ute-Gabi Weiss, geb. Lang, als viertes Kind der Eheleute Richard und Josefine Lang in Ulm geboren. Nach dem Besuch der Volksschule in Blaubeuren trat ich in das Progymnasium in Blaubeuren und später in das Mädchengymnasium in Ulm ein, wo ich im Frühjahr 196o die Reifeprüfung ablegte. Im Sommersemester 196o begann ich an der Universität Freiburg mit dem Medizinstudium. Im Frühjahr 1961 bestand ich dort die Naturwissenschaftliche Vorprüfung. Danach setzte ich mein Studium an der Universität Tübingen fort, hier bestand ich im Frühjahr 1963 die Ärztliche Vorprüfung und beendete mein Studium am 26. Juli 1966 mit dem Medizinischen Staatsexamen.